

Aus dem Institut für Pathologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Molekulare Tumorklassifikation im Kontext der Histomorphologie

Molecular tumor classification in histomorphological context

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Michael Hoberger

aus Wien

Datum der Promotion: .....05.03.2021.....



# Inhaltsverzeichnis

1	Abstracts .....	1
1.1	Abstract (Deutsch).....	1
1.2	Abstract (English).....	1
2	Einleitung.....	2
2.1	Histopathologische Betrachtung molekularer Tumorklassifikationen einzelner Organe .....	3
2.1.1	Mammakarzinom .....	3
2.1.2	Kolonkarzinom.....	4
2.1.3	Lungenkarzinom.....	6
2.1.4	Abschließende Bemerkungen.....	8
2.2	Organunabhängige molekulare Tumorklassifikationen im histologischen Kontext ...	9
2.3	Histopathologische Analyse der bisher umfangreichsten organübergreifenden molekularen Tumorklassifikation (Fragestellung der Arbeit) .....	11
3	Material und Methoden.....	11
4	Resultate.....	13
4.1	Gruppe der Tumoren mit plattenepithelialen Eigenschaften .....	13
4.2	Gruppe der Tumoren mit seltenen histopathologischen Eigenschaften .....	14
4.3	Gruppe mit nicht eindeutigen histologischen Eigenschaften .....	18
4.4	Gruppe mit falschem Histologiecode .....	19
4.5	Gruppe mit echten molekular reklassifizierten Tumoren .....	19
4.6	Abschließende Bemerkungen .....	20
5	Diskussion.....	20
6	Literaturverzeichnis .....	24
7	Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung.....	29
8	Publikation .....	31
8.1	Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge) .....	31
8.2	Hoberger M, von Laffert M, Heim D, Klauschen F. Histomorphological and molecular profiling: friends not foes! Morpho-molecular analysis reveals agreement between histological and molecular profiling. Histopathology. 2019;75(5):694-703.....	33
9	Lebenslauf.....	43
10	Publikationsliste .....	43
11	Danksagung.....	45



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Tumoren mit plattenepithelialen Eigenschaften .....	14
Abbildung 2 Tumoren mit seltenen histopathologischen Eigenschaften. ....	15
Abbildung 3 Lungenkarzinom mit neuroendokriner Differenzierung .....	16
Abbildung 4 Lungenkarzinom mit morphologischer Ähnlichkeit zum Urothelkarzinom .....	17
Abbildung 5 Tumor der Wangenschleimhaut mit mukoepidermoider Differenzierung.....	17
Abbildung 6 Nierenkarzinom mit sarkomatoiden Eigenschaften .....	17

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Molekulare Tumorklassifikation Hoadley et al. (2014) .....	10
--	----



# Abkürzungsverzeichnis

BLCA: bladder urothelial carcinoma (Urothelkarzinom)

BRCA: breast invasive carcinoma (no special type) (Mammakarzinom)

COAD: colon adenocarcinoma (Adenokarzinom des Darms)

GBM: glioblastoma multiforme (Glioblastoma multiforme)

HNSC: head and neck squamous cell carcinoma (Plattenepithelkarzinom des Kopf- und Halsbereiches)

KIRC: kidney renal clear cell carcinoma (klarzelliges Nierenzellkarzinom)

LAML: acute myeloid leukemia (akute myeloische Leukämie)

LUAD: lung adenocarcinoma (Adenokarzinom der Lunge)

LUSC: lung squamous cell carcinoma (Plattenepithelkarzinom der Lunge)

OV: ovarian serous cystadenocarcinoma (Ovarialkarzinom)

READ: rectum adenocarcinoma (Adenokarzinom des Rektums)

UCEC: uterine corpus endometrial carcinoma (Endometriumkarzinom)





# 1 Abstracts

## 1.1 Abstract (Deutsch)

Durch qualitative und quantitative Fortschritte in der molekularen Untersuchung von Tumoren stehen immer umfangreichere Datensätze zur Verfügung, die dabei helfen Krebserkrankungen besser zu verstehen. Darüber hinaus gibt es schon lange Bestrebungen dieses Wissen über die molekularen Eigenschaften von Tumoren zur Schaffung einer molekularen Tumorklassifikation zu verwenden, welche unabhängig von Histologie und Ursprungsorgan des Tumors ist. Eine derartige Klassifikation von Hoadley et al. (2014) verwendete detaillierte molekulare Profile von zwölf histopathologisch diagnostizierten Tumorentitäten und schuf, durch algorithmisches Zusammenfassen von ähnlichen Tumorprofilen, dreizehn molekulare Tumorklassen. Diese Transformation einer histologischen in eine molekulare Klassifikation führte dazu, dass 121 Tumoren nicht derselben molekularen Klasse zugeordnet wurden wie ihre übrigen organverwandten Neoplasien. Um herauszufinden inwieweit sich die molekulare Klassifikation tatsächlich von der klassischen histologischen Einteilung unterscheidet, wurden die digitalisierten histologischen Schnitte dieser reklassifizierten Tumoren untersucht. In 72% der Fälle ließen sich histopathologische Besonderheiten feststellen, welche diese Tumoren somit auch auf histologischer Ebene von ihren organverwandten Neoplasien abgrenzbar machen. Somit konnte gezeigt werden, dass vermeintliche Reklassifizierungen von Tumoren mittels molekularer Daten der histopathologischen Diagnostik mehrheitlich nicht widersprechen, sondern es sich lediglich um histologische Subtypen handelt, die bei der Reklassifizierung nicht berücksichtigt wurden. Im Gegenteil scheint es so, dass sich histopathologische Eigenschaften in molekularen Profilen widerspiegeln und sich diese beiden Ansätze somit eher ergänzen als gegenseitig ausschließen.

## 1.2 Abstract (English)

Qualitative and quantitative progress in the molecular characterization of tumors have substantially increased our understanding of cancer through extensive data sets. Consequently, efforts to use these data sets for a histology-independent molecular tumor classification have been mounted. The most comprehensive molecular classification published by Hoadley et al. (2014) used an algorithmic approach that classified detailed molecular tumor-profiles based on similarity. Twelve histopathologically diagnosed tumor entities were reclassified into thirteen molecular classes. This transformation of a histological classification into a molecular

classification lead to the reclassification of 121 tumors apart from their organ-related neoplasms. In order to determine the degree to which the molecular and the histological classifications actually differ, the digitized histopathological slides of these 121 tumors were re-examined. Special histopathological properties, which are not found in the typical tumors of the respective organs and hence are indicative of subtypes, were identified 72% of the re-examined slides. Consequently, these tumors are readily distinguishable from their organ-related malignancies through their histopathological properties and thus instead of contradicting the histological classification, the molecular classification appears to essentially be consistent with it.

## 2 Einleitung

Im Jahr 2011 haben führende europäische Pathologen festgehalten, dass die personalisierte Medizin neue Anforderungen an die Pathologie stellt (1). Der Pathologe muss sowohl histologische als auch molekulare Befunde zusammenfassend betrachten und diese zum Wohl des Patienten in eine Diagnose übersetzen. Diese Arbeit vertritt ebenfalls die Ansicht, dass sowohl molekulare als auch histologische Befunde nötig sind um einen Tumor vollständig charakterisieren zu können. Dass diese beiden Ansätze einander teilweise bestätigen und teilweise ergänzen soll hier anhand der Analyse molekularer Tumorklassifikationen in ihrem histomorphologischen Kontext gezeigt werden.

In Abschnitt 2.1 dieser Arbeit wird ein Überblick über molekulare Tumorklassifikationen epidemiologisch relevanter Tumoren gegeben, und sie werden im Kontext der klassischen histopathologischen Untersuchung diskutiert. Anhand dieses Abschnittes soll gezeigt werden, dass histopathologische Muster und molekulare Eigenschaften in engem Zusammenhang stehen können. Im Abschnitt 2.2 werden molekulare Tumorklassifikationen vorgestellt, welche versuchen Tumoren unabhängig von ihrer Histologie zu klassifizieren. Anschließend wird im Abschnitt 2.3 die spezielle Fragestellung dieser Arbeit detailliert vorgestellt. Kurz sei bereits jetzt darauf hingewiesen, dass umfangreiche molekulare Klassifikationen dazu verwendet werden können, Tumoren eines histologischen Typs beziehungsweise eines Ursprungsorgans in molekularen Klassen zusammenzufassen. Dabei sind die molekularen und histologischen Tumorklassen teilweise konsistent und teilweise diskrepant zueinander. Somit können also die molekularen Profile zweier Tumoren desselben Ursprungsorgans so unterschiedlich sein, dass sie in verschiedenen molekularen Klassen erscheinen. Diese Arbeit untersucht inwieweit eine detaillierte histopathologische Analyse Erklärungen für diese Trennung organverwandter

Tumoren in unterschiedliche molekulare Klassen liefern kann. Sollten sich diese Tumoren bereits auch auf histopathologischer Ebene durch die Berücksichtigung besonderer morphologischer Merkmale von der Mehrheit ihrer organverwandten Tumoren abgrenzen lassen, würde dies dafür sprechen, dass molekulare und histopathologische Analysen einander eher ergänzen als widersprechen. Um derartige Untersuchungen durchführen zu können wurde die bisher umfangreichste molekulare Tumorklassifikation von Hoadley et al. (2), welche eine organübergreifende molekulare Klassifizierung von Tumoren anstrebt, und für die auch die histologischen Schnitte sämtlicher untersuchter Tumoren digitalisiert vorliegen, ausgewählt. Diese Klassifikation aus 2014, welche 2018 erweitert wurde (3), wird im Abschnitt 2.2 detailliert beschrieben.

## 2.1 Histopathologische Betrachtung molekularer Tumorklassifikationen einzelner Organe

Dieser Abschnitt zeigt anhand epidemiologisch besonders relevanter Karzinome welche Zusammenhänge zwischen klassischen histopathologischen Eigenschaften und molekularen Merkmalen von Tumoren bereits bekannt sind. Im Folgenden werden exemplarisch die molekularen Klassifikationen des Mammakarzinoms, Kolonkarzinoms sowie des Lungenkarzinoms vorgestellt und jeweils unter histopathologischen Gesichtspunkten diskutiert. Der Begriff „molekulare Klassifikation“ soll hierbei nicht nur als das Endprodukt einer algorithmischen Sortierung umfangreicher molekularer Datensätze vieler einzelner Tumoren verstanden werden, sondern er soll auch die systematische Beschreibung einzelner relevanter molekularer Merkmale einer Tumorentität beinhalten, die das therapeutische Vorgehen bestimmen oder prognostische Aussagen zulassen.

### 2.1.1 Mammakarzinom

Laut dem Bericht des Robert Koch Institutes aus 2016 zum Krebsgeschehen in Deutschland erkrankten 71640 Frauen und 682 Männer im Jahr 2013 an Brustkrebs (4). Die klinisch relevanten molekularen Klassifikationen von Brustkrebs entwickelten sich in zwei Stufen. Die erste einheitlich verwendete molekulare Klassifikation aller Mammakarzinome basierte auf den Expressionen des Östrogenrezeptors (ER, estrogen receptor), des Progesteronrezeptors (PR, progesteron receptor) sowie später auch des humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors II (HER-2, human epidermal growth factor receptor II). Die systematische Untersuchung dieser Merkmale wurde erstmals in den USA ab 1999 empfohlen (5). Die Verwendung dieser Merkmale diente der Definition von vier Klassen (Hormonrezeptor positiv / HER-2 negativ;

Hormonrezeptor positiv / HER-2 positiv; Hormonrezeptor negativ / HER-2 positiv; Hormonrezeptor negativ / HER-2 negativ) mit prognostischer Relevanz (6). Diese Klassifikation hatte abgesehen von prognostischen Aspekten auch direkte Implikationen für die Therapie der Patienten (7). Eine histopathologische Analyse der Tumoren, die bezüglich dieser molekularen Marker untersucht wurden zeigte, dass sowohl diejenigen Tumoren die keinen dieser Marker exprimieren, als auch die HER-2 positiven Tumoren überzufällig häufig als schlecht differenzierte Tumoren beschrieben werden (8, 9). Umgekehrt konnte gezeigt werden, dass Hormonrezeptor-positive Tumoren signifikant häufiger als gut differenzierte Tumoren beschrieben werden (10). ER-negative Mammakarzinome waren im Gegensatz dazu häufiger high-grade Tumoren mit prognostisch ungünstigen histopathologischen Eigenschaften, wie etwa Nekrosen und ausgeprägten lymphozytären Infiltraten (10, 11).

Die zweite Stufe der molekularen Klassifikation von Brustkrebs verließ die Einteilung der Tumoren anhand einzelner Merkmale und basiert primär auf der systematischen Untersuchung von cDNA mittels microarray-Analysen (12, 13). Die so entstandenen molekularen Klassen „Basal like“, „HER2 Enriched“, „Normal Breast Like“, „Luminal A“ sowie „Luminal B“ wurden anschließend noch durch die Klasse „Claudin Low“ ergänzt (14). Diese neuen molekularen Klassen gingen somit deutlich über die bisherige Klassifizierung von Mammakarzinomen anhand von HER-2 sowie der Hormonrezeptoren hinaus, und dies trug nicht nur zum Verständnis der Biologie von Brustkrebs bei, sondern hatte auch klinische Konsequenzen (13). Histopathologische Betrachtungen dieser Klassen ergeben, dass die Tumoren der Klassen „Basal-Like“ und „HER-2 Enriched“ in mehr als 70% der Fälle schlecht differenzierte Tumoren sind, während jene der Klassen „Luminal A“ sowie „Luminal B“ häufiger als gut differenzierte Tumoren beschrieben werden (15). Histopathologische Analysen der Klasse „Claudin Low“ ergaben eine Assoziation dieser Mammakarzinome mit Nekrose, Metaplasie, medullärem Wachstumsmuster, demoplastischer Gewebereaktion sowie Abwesenheit einer plattenepithelialen Morphologie (16). Die molekulare Klasse „Normal Breast Like“ ist wenig erforscht und es handelt sich vermutlich nur um ein Artefakt, bedingt durch die Zusammensetzung der primären Datensätze (17).

### 2.1.2 Kolonkarzinom

Im Jahr 2013 erkrankten 62410 Menschen in Deutschland an Darmkrebs (4). Abgesehen von seiner epidemiologischen Relevanz soll das kolorektale Karzinom insbesondere deshalb in dieser Arbeit diskutiert werden, weil es wie kein anderer Tumor den Zusammenhang zwischen

molekularen und histopathologischen Veränderungen illustriert. Der Nachweis, dass eine wachsende Anzahl an aktivierenden Mutationen in Protoonkogenen sowie ein Verlust von Tumorsuppressorgenen zu einem immer größer werdenden Adenom, und schließlich zu einem invasiven Karzinom führen können, hat das Verständnis von Krebs nachhaltig beeinflusst (18). Diese Adenom-Karzinom-Sequenz und die sie begleitenden molekularen Veränderungen stellen zwar keine molekulare Klassifikation im engeren Sinn dar, sollen aber trotzdem kurz beschrieben werden, da hier der enge Zusammenhang zwischen molekularen und histologischen Veränderungen im Rahmen der Pathogenese von Karzinomen besonders deutlich wird. Diese enge Verzahnung von morphologischen und molekularen Eigenschaften wird die theoretische Grundlage für die Analyse von organübergreifenden molekularen Klassifikationen bilden, wo untersucht werden soll inwieweit sich histopathologische Merkmale in molekularen Profilen widerspiegeln. Außerdem sollen die theoretischen Aspekte der Adenom-Karzinom-Sequenz zur molekularen Klassifikation von Darmkrebs überleiten, welche zwischen den zwei Kategorien „chromosomal instability“-Karzinome (im weiteren Textverlauf als CSI-Karzinome bezeichnet) und „microsatellite instability“-Karzinome (im weiteren Textverlauf als MSI-Karzinome bezeichnet) unterscheidet.

Ausgehend von einem normalen Darmepithel kommt es durch chromosomale Instabilität zum Verlust des Tumorsuppressorgens APC (adenomatous polyposis coli) und dadurch zu einer Dysregulation des TGF- $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ) Signalweges, was wiederum der entscheidende Schritt für die Entstehung eines initialen Adenoms ist. Im Gegensatz zu diesen CSI-Karzinomen kann alternativ der histopathologische Übergang von normalem Epithel zu einem Adenom auch durch Fehlfunktion von Genen, die für die Reparatur von DNA-Schäden verantwortlich sind, eingeleitet werden. Als charakteristischer molekularer Nebenfund dieses Weges der Tumorentstehung kommt es zur Mikrosatelliteninstabilität, was zu der Bezeichnung MSI-Karzinome geführt hat. Im weiteren Verlauf kommt bei CSI- und MSI-Karzinomen durch aktivierende Mutationen in Protoonkogenen wie KRAS (codiert für ein monomeres G-Protein) und BRAF (codiert für eine Serin/Threonin-Kinase), sowie durch Verlust von Tumorsuppressorgenen wie TP53 (codiert das Protein 53 (p53)) zu einem zunehmenden Wachstum des Adenoms sowie zum Auftauchen höhergradiger Dysplasien. Schließlich wird die Basalmembran der Darmschleimhaut durchbrochen und ein invasives Karzinom ist entstanden (19). Die genaue Ursache der chromosomalen Instabilität ist noch nicht endgültig geklärt, und ebenso unklar ist, ob der Verlust des APC-Gens die Ursache oder die Konsequenz der chromosomalen Instabilität ist (20). Die Entstehung der Kolonkarzinome mit instabilen

Mikrosatelliten kommt meistens durch Hypermethylierung, und damit einhergehender Suppression von DNA-Reparaturgenen, insbesondere MLH-1 (MutL homolog 1), zustande (21).

Nach dieser Betrachtung des Zusammenhanges zwischen histopathologischen und molekularen Veränderungen im Rahmen der Adenom-Karzinom-Sequenz, sollen nun noch die histopathologischen Besonderheiten der CSI-, MSI- sowie der später hinzugekommenen CIMP-Karzinome (CpG island hypermethylation phenotype) vorgestellt werden. Da die Mehrzahl der Kolonkarzinome CSI-Karzinome sind, und somit auch die häufigsten histopathologischen Muster von ihnen stammen, werden vor allem die histopathologischen Besonderheiten der MSI- und CIMP-Karzinome diskutiert. MSI-Karzinome präsentieren sich morphologisch als schlecht differenzierte Karzinome mit muzinöser Differenzierung, selten weisen sie eine medulläre Differenzierung auf, und oft liegen verschiedene Differenzierungsmuster in demselben Tumor vor (22). Der später entdeckte molekulare Subtyp der CIMP-Karzinome, der sich neben hypermethylierten CpG-Inseln ebenfalls durch Mikrosatelliteninstabilität auszeichnet, weist überzufällig häufig sessile serratierte Adenome als Vorläuferläsion auf (21, 23, 24). Karzinome, die sich dann aus diesen serratierten Adenomen entwickeln, zeichnen sich ebenfalls typischerweise durch schlechte Differenzierung und muzinöse Morphologie, sowie infiltrierende Lymphozyten aus (25). Die histopathologischen Ähnlichkeiten der MSI-Karzinome und CIMP-Karzinome liegen höchstwahrscheinlich an dem hypermethylierten MLH1-Gen, welches bei beiden molekularen Typen eine pathogenetische Schlüsselrolle einnimmt (21). Vermutlich handelt es sich überhaupt bei den meisten sporadischen MSI-Karzinomen, im Gegensatz zu den hereditären MSI-Karzinomen im Rahmen des Lynch-Syndroms, um CIMP-Karzinome (21, 23).

### 2.1.3 Lungenkarzinom

Als letztes soll das Lungenkarzinom, an welchem 2013 in Deutschland 53500 Menschen erkrankten (4), unter molekularen sowie histopathologischen Gesichtspunkten diskutiert werden. Da eine Gesamtdarstellung aller histopathologischen Varianten des Bronchialkarzinoms für diese Arbeit nicht zielführend wäre, soll insbesondere auf die Unterscheidung zwischen dem kleinzelligen (SCLC, small cell lung cancer) und dem nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom (NSCLC, non-small cell lung cancer) eingegangen werden, sowie der weiteren Unterteilung des NSCLC in Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome (26). Die Relevanz der histopathologischen Einteilung in SCLC und NSCLC ist unbestritten,

da sie unmittelbare therapeutische Konsequenzen, wie etwa eine prophylaktische Bestrahlung des Gehirns beim SCLC, nach sich zieht (27). Die weitere Einteilung der NSCLC in Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome war früher eher von zweitrangiger Bedeutung, allerdings haben molekulare Untersuchungen gezeigt, dass sich spezifische, therapeutisch angehbare Veränderungen von Signalproteinen deutlich häufiger in Adenokarzinomen finden lassen (28). Wegen des häufigeren Vorkommens gezielt angehbarer Veränderungen von Signalproteinen in Adenokarzinomen wird empfohlen alle nicht kurativ therapierbaren nicht-plattenepithelialen NSCLC mindestens auf Mutationen in den Exonen 18-21 des EGFR-Gens (epidermal growth factor receptor), Fusionen des ALK-Gens (anaplastic lymphoma kinase) sowie des ROS1-Gens (c-ros oncogene 1) und Mutationen in BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B) an der Position V600 zu testen (27). Die aktuellen Empfehlungen des nationalen Netzwerks Genomische Medizin (nNGM) gehen sogar noch darüber hinaus (29).

Diese Betrachtungen zum Lungenkarzinom zeigen, dass sich der häufigste histopathologische Subtyp, das Adenokarzinom, molekularpathologisch anhand zahlreicher gezielt therapeutisch angehbarer Alterationen unterteilen lässt. Die Möglichkeiten der molekularen Charakterisierung von Adenokarzinomen der Lunge beschränkt sich aber nicht nur auf das Vorhandensein einzelner Mutationen, die zu Veränderungen in Signalkaskaden führen. Molekulare Profile von Adenokarzinomen, welche mittels Sequenzierung von DNA, mRNA und microRNA, sowie Untersuchungen der DNA-Methylierungsmuster erstellt wurden, ließen sich teilweise durch eine der oben beschriebenen molekularen Alterationen charakterisieren (30). So waren die EGFR-Mutationen typischerweise im molekularen Subtyp TRU (terminal respiratory unit) nachweisbar (30). Neben diesen einzelnen molekularen Merkmalen, die für einen molekularen Subtyp charakteristisch sind, reichen auch histopathologische Merkmale bis auf die Ebene der molekularen Subtypen des Adenokarzinoms herab. So zeichnet sich der molekulare Subtyp PI (proximal-inflammatory) durch ein solides histopathologisches Muster, also ein Wachstum der entarteten Zellen in zusammenhängenden Platten beziehungsweise Nestern, aus (30).

Zusammenfassend liefern also sowohl histopathologische als auch molekulare Merkmale entscheidende Hinweise für die Therapie des Lungenkarzinoms. Zusätzlich zeigt die molekulare Klassifikation des Adenokarzinoms, dass molekulare Subtypen eines Karzinoms durch eine einzige histopathologische Eigenschaft charakterisiert werden können.

## 2.1.4 Abschließende Bemerkungen

Bei jeder Art von Tumorerkrankung sind das Verständnis von Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prognose von entscheidender Bedeutung. Die Diskussion der hier abgehandelten Karzinome hat gezeigt, dass bei allen diesen Aspekten sowohl morphologische als auch molekulare Betrachtungen essentielle Beiträge zum Verständnis liefern.

Bezüglich der Pathogenese wurde anhand der histologischen Adenom-Karzinom-Sequenz des Kolonkarzinoms sowie den damit einhergehenden molekularen Veränderungen gezeigt, dass es nicht nur einen engen Zusammenhang zwischen histologischen und molekularen Merkmalen gibt, sondern auch, dass beide die Pathogenese des Kolonkarzinoms beschreiben. Bei der Diagnostik des Mammakarzinoms werden histopathologische Merkmale, wie etwa Grad der Differenzierung, zur Beschreibung der Aggressivität des Tumors verwendet, und Untersuchungen von Hormonrezeptoren und HER2-Status dienen der Zuweisung einer molekularen Klasse. Auch hier konnten Zusammenhänge zwischen morphologischen und molekularen Merkmalen herausgearbeitet werden und es wurde gezeigt, dass sowohl morphologische als auch molekulare Eigenschaften zu klinisch sinnvollen Klassifikationen führen. Anhand des Lungenkarzinoms wurde gezeigt, dass die histopathologische Unterscheidung in kleinzelliges und nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom wegweisend für das weitere therapeutische Vorgehen ist, und genauso konnten weitreichende therapeutische Konsequenzen bei der molekularen Charakterisierung von Adenokarzinomen aufgezeigt werden. Die Relevanz der histopathologischen Diagnose bezüglich Prognose konnte ebenfalls anhand der Einteilung der Mammakarzinome demonstriert werden. Ein histopathologisches Bild mit schlecht differenziertem Karzinom, vielen Mitosefiguren sowie die Diagnose eines inflammatorischen Mammakarzinoms spricht ebenso wie der molekulare Nachweis eines „Basal-like“-Karzinoms oder eines „HER-2 Enriched“-Karzinoms für eine schlechte Prognose.

Als Grundlage für die Diskussion in Abschnitt 5 dieser Arbeit sollen abschließend die drei wichtigsten Aussagen der vorangegangenen Abschnitte zusammengefasst werden:

- Es gibt einen Zusammenhang zwischen molekularen und histopathologischen Eigenschaften der häufigsten Karzinome, und dies spiegelt sich in den partiellen Überlappungen von molekularen und histopathologischen Tumorklassifikationen wider.



- Die Analyse von histopathologischen und molekularen Eigenschaften von Karzinomen liefert teils konsistente und teils komplementäre Informationen zur Pathogenese, Diagnose, Therapie und Prognose dieser Erkrankungen.
- Umfangreiche, auf genomischen, epigenetischen und proteomischen Merkmalen basierende, molekulare Profile von Karzinomen eines einzelnen Organs können durch ein einendes histopathologisches Merkmal charakterisiert werden.

## 2.2 Organunabhängige molekulare Tumorklassifikationen im histologischen Kontext

Im Gegensatz zu den Anfängen der molekularen Tumorklassifikationen einzelner Organe, welche primär darauf abzielten, pathogenetische Aspekte der Karzinome zu entschlüsseln, um dadurch Rückschlüsse auf Therapie und Prognose ziehen zu können, stand am Anfang der organübergreifenden molekularen Klassifikationen der Wunsch einen Tumor unbekannten Ursprungs dem korrekten Ursprungsorgan zuzuordnen. So konnte 2001 gezeigt werden, dass molekulare Profile in 90% der Fälle dazu in der Lage sind eine Tumorprobe unbekannten Ursprungs dem korrekten Organ zuzuordnen (31). Diese Profile bestanden aus RNA-basierten Mikroarray-Daten der gesunden Ursprungsgewebe sowie aus gesicherten Karzinomen dieser Ursprungsgewebe. Derartige Klassifikationen haben für diese Arbeit eher historische Relevanz, aber sie legten den Grundstein für ambitioniertere molekulare Klassifikationssysteme, welche Tumoren nicht nur dem Ursprungsgewebe zuordnen wollen, sondern welche versuchen organunabhängige molekulare Klassen zu definieren, denen dann Tumoren mit ähnlichen molekularen Profilen, aber gegebenenfalls verschiedenen Ursprungsorganen, zugeordnet werden sollen.

Die größte und bisher umfangreichste derartige Klassifikation von Hoadley et al. (2014) konnte 3527 Tumorproben von 12 verschiedenen Krebserkrankungen (Urothelkarzinom, Mammakarzinom, Kolonkarzinom, rektales Adenokarzinom, Glioblastoma multiforme, oropharyngeale Plattenepithelkarzinome, Nierenzellkarzinom, akute myeloische Leukämie, Adenokarzinom der Lunge, Plattenepithelkarzinom der Lunge, Ovarialkarzinom und Endometriumkarzinom), ohne Berücksichtigung histopathologischer Eigenschaften, in 13 verschiedene molekulare Klassen einteilen. Die molekularen Profile der einzelnen untersuchten Tumoren, welche dann durch algorithmische Sortierung gemäß Ähnlichkeit zu den molekularen Klassen zusammengeführt wurden, basierten auf Sequenzierung des gesamten Exoms, Analyse

der Kopienzahlvariation (copy number variation), Analyse der DNA-Methylierung, Analyse der mRNAs sowie der microRNAs und Analyse von 131 Proteinen und Phosphoproteinen mittels Reverse Phase Proteinarrays. Einige dieser molekularen Klassen sind nahezu deckungsgleich mit den Tumoren eines Ursprungsorgans, während die übrigen molekularen Klassen Tumoren unterschiedlicher Ursprungsorgane beinhalten (2). Eine vollständige Darstellung dieser Ergebnisse findet sich in Tabelle 1.

	Molekulare Klasse	C1 LUAD- Enriched	C2 Squamous- like	C3 BRCA/Luminal	C4 BRCA/Basal	C5 KIRC	C6 UCEC	C7 COAD/READ	C8 BLCA	C9 OV	C10 GBM	C11 Small- Various	C12 Small- Various	C13 AML	Total
Histologiecode															
BLCA		10	31	0	0	1	0	0	74	0	1	1	2	0	120
BRCA		2	1	688	135	5	0	0	2	0	0	0	0	1	834
COAD		0	0	0	0	0	0	182	0	0	0	0	0	0	182
GBM		3	0	0	0	2	0	0	0	0	190	0	0	0	195
HNSC		1	302	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	305
KIRC		1	0	0	0	470	0	0	0	0	2	0	2	0	475
LAML		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	161	161
LUAD		258	6	0	1	0	1	0	1	0	1	0	2	0	270
LUSC		28	206	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0	238
OV		1	0	0	0	1	0	0	0	327	0	0	0	0	329
READ		0	0	0	0	0	0	73	0	0	0	0	0	0	73
UCEC		2	0	0	0	0	340	1	0	0	0	2	0	0	345
Total		306	546	688	137	479	341	256	79	327	197	3	6	162	3527

Tabelle 1 Molekulare Tumorklassifikation Hoadley et al. (2014). Die Zeilen zeigen die von Hoadley et al. untersuchten Tumorentitäten gemäß ihrer Histologiecodes. Die Spalten zeigen die molekularen Klassen, welche sich durch algorithmisches Zusammenfassen von detaillierten molekularen Profilen dieser Tumorentitäten nach Ähnlichkeit ergeben. Weder detaillierte histopathologische Eigenschaften noch Informationen über das Ursprungsorgan der Tumoren fanden Berücksichtigung in der molekularen Klassifikation. Diese Tabelle wurde gemäß der ursprünglichen Darstellung von Hoadley et al. (2014) erstellt (2). Definitionen der Abkürzungen finden sich im Text sowie dem Abkürzungsverzeichnis.

Bei diesem Vergleich molekularer und histopathologischer Merkmale wurden zwar umfangreiche molekulare Daten zur Erstellung der molekularen Profile verwendet, die histopathologischen Klassen orientierten sich allerdings ausschließlich an allgemeinen histologischen Typen. Diese übergeordneten Histotypen fassen eine große Vielfalt von histologischen Eigenschaften unter einem top-level Histologiecode zusammen (32). So werden beispielsweise ein Nierenzellkarzinom mit weitgehend sarkomatoider Differenzierung und ein typisches gut bis mäßig differenziertes klarzelliges Nierenzellkarzinom als klarzelliges Nierenzellkarzinom (TCGA-Code KIRC: kidney renal clear cell carcinoma) zusammengefasst. Auffallend bei diesem Vergleich von molekularen und histologischen Profilen waren 121 Tumoren die nicht in dieselbe molekulare Klasse eingeordnet wurden wie ihre organverwandten Tumoren. Diese Tumoren werden im weiteren Verlauf, in den Worten der Autoren dieser Klassifikation, als „molekular reklassifiziert“ bezeichnet (2).

## 2.3 Histopathologische Analyse der bisher umfangreichsten organübergreifenden molekularen Tumorklassifikation (Fragestellung der Arbeit)

Basierend auf der Klassifikation von Hoadley et al. (2014) eröffnen nun diese molekular reklassifizierten Tumoren eine Gelegenheit, die Relevanz der klassischen histopathologischen Untersuchung im Kontext einer der umfangreichsten molekularen Tumorklassifikationen zu untersuchen. Die 121 molekular reklassifizierten Tumoren wurden histopathologisch nur sehr unscharf, nämlich durch top-level Histologiecodes, beschrieben und dann durch die molekulare Klassifikation, welche sich auf detaillierte molekulare Profile stützt, abseits der Mehrheit ihrer organverwandten Tumoren klassifiziert. Sollte nun eine detaillierte histopathologische Untersuchung dieser reklassifizierten Tumoren zeigen, dass sich bei diesen Tumoren seltene beziehungsweise ungewöhnliche histomorphologische Eigenschaften finden lassen, die diese molekular reklassifizierten Tumoren bereits auch auf histopathologischer Ebene von der Mehrheit ihrer organverwandten Karzinome abgrenzbar machen, so wären detaillierte histopathologische und molekulare Tumorprofile konsistent und nicht widersprüchlich.

## 3 Material und Methoden

Die Beschreibung der Methodik in diesem Abschnitt orientiert sich an der Beschreibung von Hoberger et al. (2019) (33). Um die 121 molekular reklassifizierten Tumoren detailliert histologisch untersuchen zu können wurden die digitalisierten HE-Tumorschnitte aller reklassifizierten Tumoren aus der cBioPortal Datenbank (34) heruntergeladen. Zusätzlich wurden begleitende Pathologiebefunde (sofern vorhanden) derselben Datenbank entnommen und in der Analyse berücksichtigt. Nachdem die histologischen Schnitte aller 121 Tumoren erstmals durchgesehen wurden, ergaben sich 5 verschiedene Kriterien die jeweils definierend für eine Gruppe sind. Diese Zusammenfassung in Gruppen erlaubte dann einen systematischen Vergleich mit den molekularen Tumorklassen. Die Untersuchung der diagnostischen HE-Schnitte fokussierte sich auf die folgenden fünf Kriterien beziehungsweise die sich daraus ergebenden Gruppen:

- **Gruppe der Tumoren mit plattenepithelialen Eigenschaften.** Tumoren dieser Gruppe werden aufgrund plattenepithelialer Eigenschaften histopathologisch nicht exakt durch den für sie vorgesehenen Histologiecode beschrieben. Beispiel: Ein Urothelkarzinom mit plattenepithelialen Eigenschaften das den Histologiecode BLCA

(Urothelkarzinom) bekam und molekular in die C2-squamous-like Gruppe reklassifiziert wurde. Einendes Merkmal dieser molekularen Gruppe ist eine plattenepitheliale Morphologie.

- **Gruppe der Tumoren mit seltenen histopathologischen Eigenschaften.** Die Tumoren dieser Gruppe zeichnen sich durch seltene histopathologische Eigenschaften aus, welche nicht ausreichend durch top-level Histologiecodes beschrieben werden. Molekular werden sie einer Gruppe zugeordnet die weder Tumoren desselben Ursprungsorgans noch derselben Histomorphologie enthält. Beispiel: Ein Urothelkarzinom mit kleinzelliger Differenzierung das den Histologiecode BLCA erhält und molekular der C10-GBM Gruppe, welche hauptsächlich Glioblastome enthält, zugeordnet wird.
- **Gruppe mit nicht eindeutigen histologischen Eigenschaften.** Die histopathologischen Eigenschaften dieser Tumoren erlauben keine eindeutige Diagnose und somit kann kein eindeutiger Vergleich mit der molekularen Klasse gezogen werden. Beispiel: Schlecht differenzierter Lungentumor der als Plattenepithelkarzinom diagnostiziert wird und dann gemeinsam mit der Mehrzahl der Adenokarzinome der Lunge molekular reklassifiziert wird.
- **Gruppe mit falschem Histologiecode.** Diese Tumoren wurden irrtümlicherweise mit einem falschen Histologiecode versehen, was zu Inkonsistenzen mit den molekularen Klassen führt. Sie werden in meiner Analyse formal erwähnt aber ansonsten nicht weiter berücksichtigt.
- **Gruppe mit echten molekular reklassifizierten Tumoren.** Die histopathologischen Eigenschaften dieser Tumoren werden ausreichend durch den top-level Histologiecode beschrieben. Trotzdem werden diese Tumoren nicht derselben molekularen Klasse zugeordnet wie die Mehrzahl der organverwandten Tumoren mit identischen histopathologischen Merkmalen. Beispiel: Ein Tumor der Niere, welcher eindeutig als klarzelliges Nierenzellkarzinom zu diagnostizieren ist, wird von der molekularen Klassifikation der Klasse C10-GBM, welche hauptsächlich Glioblastome enthält, zugeordnet und nicht wie zu erwarten der Klasse C5-KIRC, welche hauptsächlich klarzellige Nierenzellkarzinome enthält.

## 4 Resultate

Die hier beschriebenen Resultate der histopathologischen Untersuchungen der 121 molekular reklassifizierten Tumoren wurden erstmals von Hoberger et al. (2019) veröffentlicht (33). Im folgenden Abschnitt erfolgt nun eine detaillierte Beschreibung sämtlicher histopathologischer Eigenschaften der reklassifizierten Tumoren gemäß der in Abschnitt 3 definierten Gruppen.

### 4.1 Gruppe der Tumoren mit plattenepithelialen Eigenschaften

Die 32 Tumoren dieser Gruppe weisen als einendes histopathologisches Merkmal plattenepitheliale Eigenschaften auf. Am häufigsten waren 31 Urothelkarzinome, die von der molekularen Klassifikation in der Klasse C2-squamous-like, jener molekularen Klasse die primär Tumoren mit plattenepithelialen Eigenschaften enthält, zusammengefasst werden. Die Mehrheit der übrigen Urothelkarzinome mit typischen histopathologischen Merkmalen wird der molekularen Klasse C8-BLCA, die fast ausschließlich Urothelkarzinome enthält, zugeordnet. In der molekularen Klassifikation werden die histopathologischen Eigenschaften sowohl der typischen als auch der plattenepithelialen Urothelkarzinome durch den top-level Histologiecode BLCA (bladder urothelial carcinoma) (32) beschrieben. Die histopathologische Untersuchung dieser molekular reklassifizierten Urothelkarzinome zeigt aber plattenepitheliale Eigenschaften in allen Tumoren (Abbildung 1). Zusätzlich zu den beschriebenen Urothelkarzinomen findet sich auch ein Mammakarzinom mit plattenepithelialen Eigenschaften welches molekular der C2-squamous-like Klasse zugeordnet wird (Abbildung 1). Auch die histopathologischen Eigenschaften dieses Tumors wurden beim Erstellen der molekularen Klassifikation lediglich durch den Histologiecode BRCA (breast invasive carcinoma) (32) beschrieben. Dieser Histologiecode legt natürlich eine drüsenähnliche Morphologie, wie eben typisch für das Adenokarzinom der Brust, nahe und seltene histopathologische Eigenschaften, wie etwa eine plattenepitheliale Differenzierung, werden nicht abgebildet.

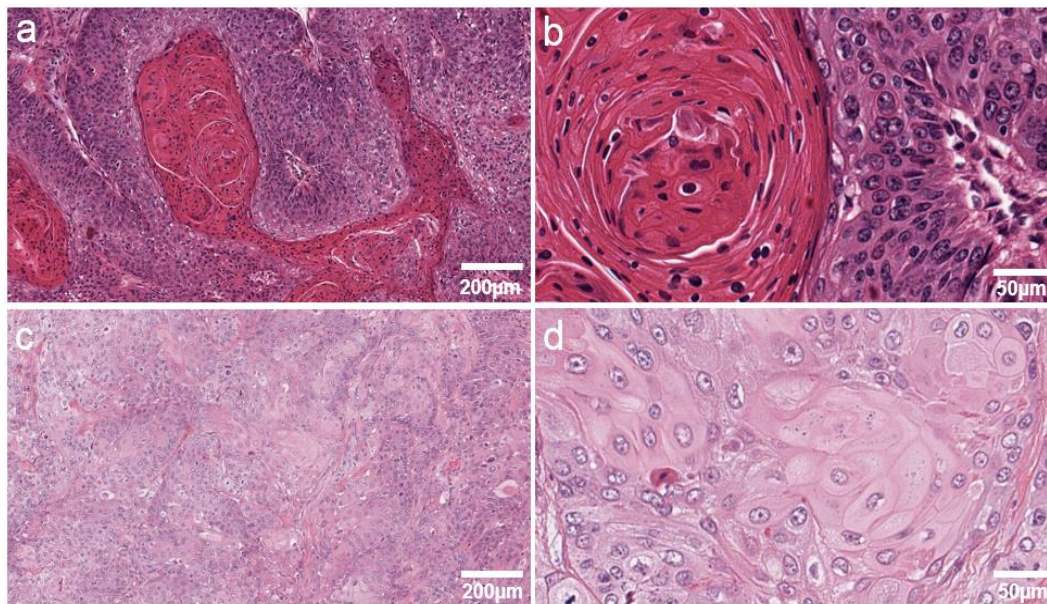


Abbildung 1 a,b, zeigen ein Urothelkarzinom mit plattenepithelialen Eigenschaften. Insbesondere die Hornperlen weisen darauf hin, dass hier kein klassisches Urothelkarzinom vorliegt. Die molekulare Klassifikation ordnete diesen Tumor der molekularen Klasse C2-squamous-like zu und nicht der Klasse C8-BLCA, welche die Mehrzahl der Urothelkarzinome enthält. c,d zeigen ein Mammakarzinom mit plattenepithelialer Differenzierung, welches als einziger Vertreter der 834 untersuchten Mammakarzinome der molekularen Klasse C2-squamous-like zugeordnet wurde. Die Abbildung ist einer bereits publizierten Abbildung von Hoberger et al. (2019) nachempfunden (33).

## 4.2 Gruppe der Tumoren mit seltenen histopathologischen Eigenschaften

Die 23 Tumoren in dieser Gruppe weisen im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen plattenepithelialen Tumoren kein einendes histopathologisches Charakteristikum auf, allerdings entsprechen auch diese Tumoren nicht den typischen, beziehungsweise häufigen histopathologischen Mustern ihrer organverwandten Neoplasien. Einer der eindrucklichsten Vertreter dieser Gruppe ist ein weitgehend von Lymphozyten infiltriertes Mammakarzinom, welches molekular der Klasse C13-AML, welche abgesehen von diesem Tumor ausschließlich akute myeloische Leukämien enthält, zugeordnet wird (Abbildung 2). Bei einer detaillierten histopathologischen Untersuchung erkennt man diese Eigenschaft und es wird deutlich, dass ein lymphozytenreiches Mammakarzinom als besonderer Subtyp vorliegt. Eine reine molekulare Analyse dieses Tumors erhebt auch Daten der infiltrierenden Lymphozyten, deren molekulare Eigenschaften dann die Nähe zu einer hämatologischen Neoplasie nahelegen. Ein weiteres Mammakarzinom, dessen Morphologie stark an ein Urothelkarzinom erinnert, wird der molekularen Klasse C8-BLCA zugeordnet, welche hauptsächlich Urothelkarzinome enthält (Abbildung 2). Zwei muzinöse Mammakarzinome werden ebenfalls nicht mit der Mehrheit der



übrigen Mammakarzinome klassifiziert, sondern der Klasse C5-KIRC zugeordnet, welche hauptsächlich klarzellige Nierenzellkarzinome enthält (Abbildung 2).

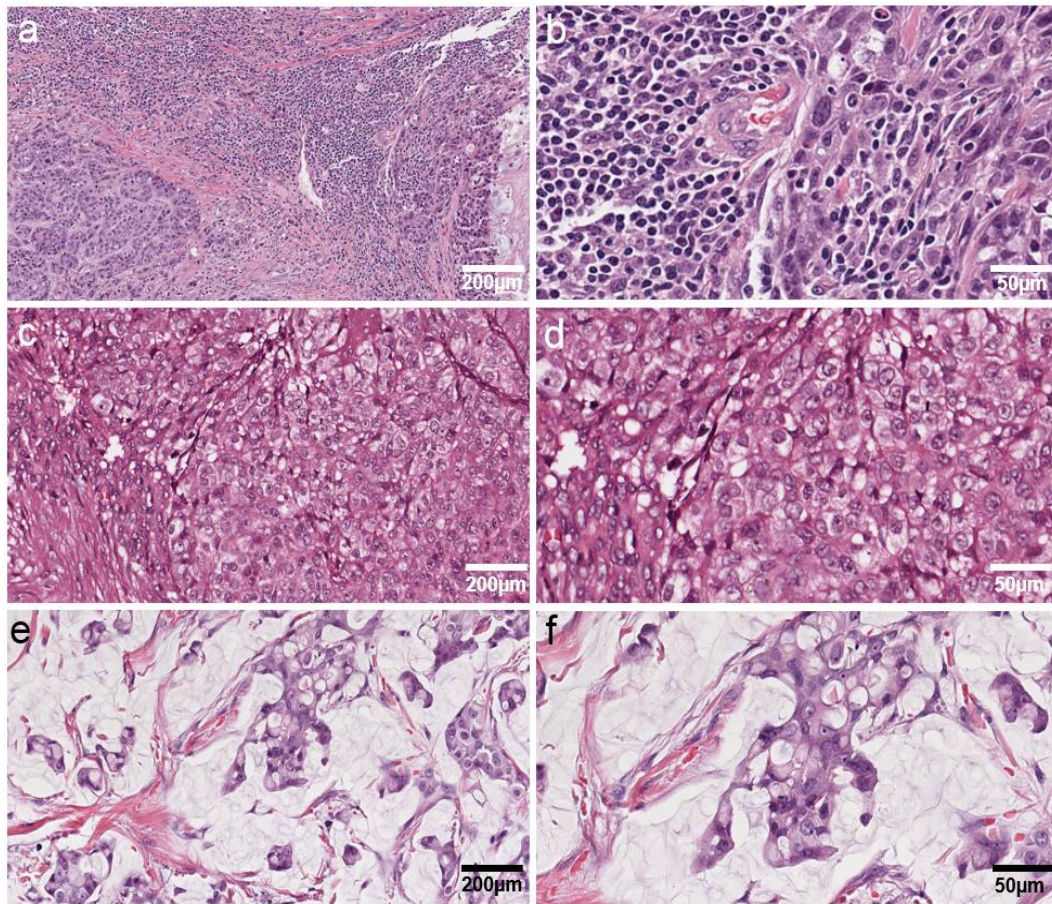


Abbildung 2 a,b, zeigen ein Mammakarzinom mit ausgeprägtem lymphozytären Infiltrat. Die molekulare Klassifikation ordnete diesen Tumor der Klasse C13-AML, welche ansonsten nur akute myeloische Leukämien enthält, zu. c,d zeigen ein Mammakarzinom mit histopathologischen Eigenschaften die einem Urothelkarzinom ähneln. Dieses Karzinom wurde der molekularen Klasse C8-BLCA, welche hauptsächlich Urothelkarzinome enthält, zugeordnet. e,f zeigen ein Mammakarzinom mit eindeutiger muzinöser Morphologie, welches von der molekularen Klassifikation gemeinsam mit der Mehrheit der Nierenkarzinome klassifiziert wurde. Die Abbildung ist einer bereits publizierten Abbildung von Hoberger et al. (2019) nachempfunden (33).

Neben Mammakarzinomen finden sich in dieser Gruppe auch zwei Lungentumoren, die der molekularen Klasse C10-GBM, welche hauptsächlich Glioblastome enthält, zugeordnet werden. Einer dieser beiden Tumoren weist eine neuroendokrine Differenzierung (Abbildung 3) auf, während es sich bei dem anderen Lungentumor um ein pleomorphes high-grade Karzinom handelt. Ein weiterer Lungentumor mit morphologischer Ähnlichkeit zum Urothelkarzinom wird der molekularen Klasse C8-BLCA zugeordnet (Abbildung 4). Auch zwei oropharyngeale Tumoren mit spindelizelliger beziehungsweise mukoepidermoider Differenzierung (Abbildung 5) erhalten lediglich den top-level Histologiecode HNSC (head

and neck squamous cell carcinoma) (32) und werden nicht mit der Mehrheit der oropharyngealen Tumoren in der molekularen Klasse C2-squamous-like klassifiziert, sondern als C10-GBM beziehungsweise C8-BLCA. Als weitere Vertreter dieser Gruppe sind zwei Nierenzellkarzinome mit sarkomatoider Differenzierung (Abbildung 6) und zwei atypisch differenzierte Nierenzellkarzinome zu nennen die nicht mit ihren organverwandten Karzinomen in der molekularen Klasse C5-KIRC zusammengefasst werden, sondern anderen Klassen wie etwa C10-GBM, die hauptsächlich Glioblastome enthält, und C1-LUAD, welche hauptsächlich Adenokarzinome der Lunge enthält, zugeordnet werden. Drei Lungentumoren mit adenosquamöser Morphologie, welche auch in den begleitenden Pathologieberichten beschrieben wurde, werden im Rahmen der molekularen Klassifikation als Plattenepithelkarzinome bezeichnet, dann aber der molekularen Klasse C1-LUAD zugeteilt, welche primär Adenokarzinome der Lunge enthält. Drei weitere Lungentumoren die sich als basaloide Plattenepithelkarzinome präsentieren werden der molekularen Klasse C1-LUAD zugeteilt. Ein Urothelkarzinom mit kleinzelliger Differenzierung wird molekular als C10-GBM reklassifiziert. Der molekularen Klasse C11-small-various, welche zu wenig Mitglieder enthält um sie mit einem übergeordneten Histotyp gleichzusetzen, werden ein Urothelkarzinom sowie ein Endometriumkarzinom mit kleinzelliger Differenzierung zugeteilt. Als letzter Vertreter dieser Gruppe bleibt noch ein Lungenkarzinom zu nennen, welches sarkomatoide Eigenschaften aufweist und der molekularen Klasse C12-small-various, welche wie die Klasse C11-small-various zu wenig Mitglieder für einen übergeordneten Histotyp enthält, zugeordnet wird.

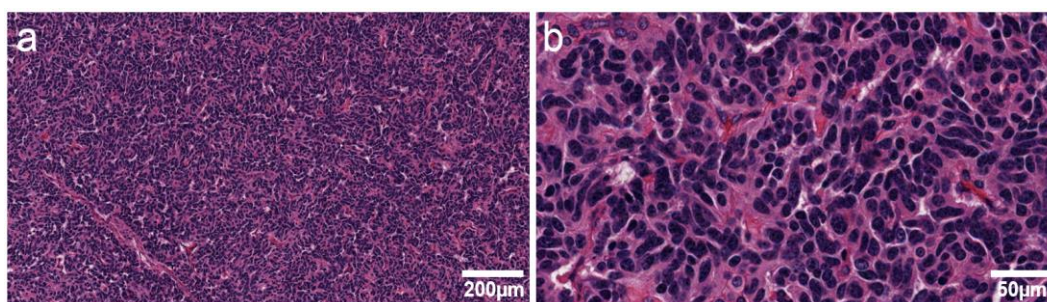


Abbildung 3 a,b zeigen ein Lungenkarzinom mit neuroendokriner Differenzierung welches der molekularen Klasse C10-GBM, welche hauptsächlich Glioblastome enthält, zugeordnet wurde. Die Abbildung ist einer bereits publizierten Abbildung von Hoberger et al. (2019) nachempfunden (33).



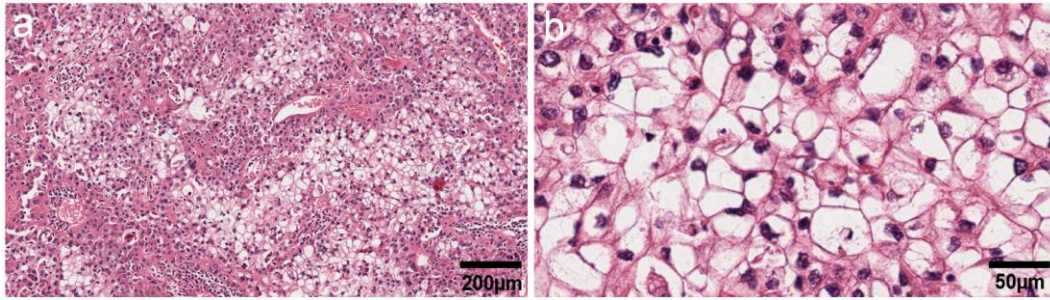


Abbildung 4 a,b, zeigen ein Lungenkarzinom dessen histopathologisches Muster stark an ein Urothelkarzinom denken lässt. Dieser Tumor wurde mit der Mehrzahl der Urothelkarzinome der molekularen Klasse C8-BLCA zugeordnet. Die Abbildung ist einer bereits publizierten Abbildung von Hoberger et al. (2019) nachempfunden (33).

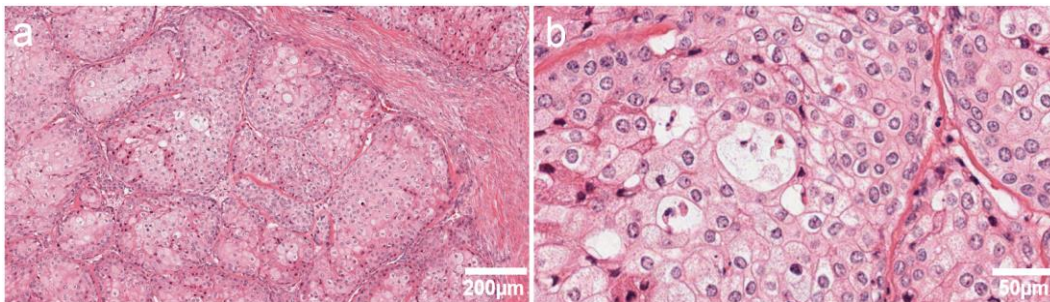


Abbildung 5 a,b zeigen einen Tumor der Wangenschleimhaut mit mukoepidermoider Differenzierung welcher mit der Mehrheit der Urothelkarzinome in der molekularen Klasse C8-BLCA zusammengefasst wurde. Die Abbildung ist einer bereits publizierten Abbildung von Hoberger et al. (2019) nachempfunden (33).

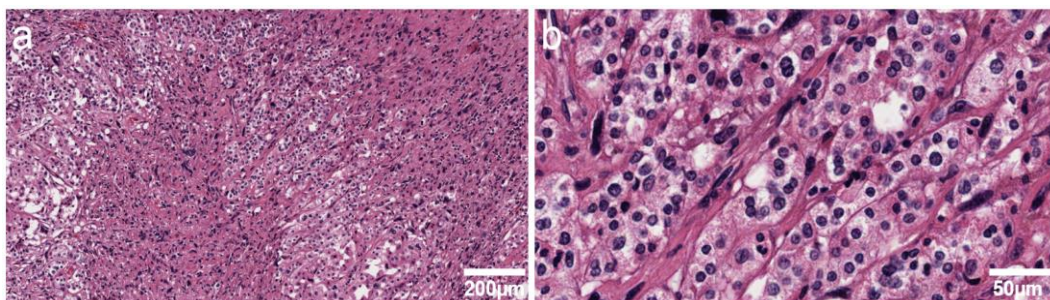


Abbildung 6 a,b zeigen ein Nierenkarzinom mit sarkomatoiden Eigenschaften das der molekularen Klasse C1-LUAD, welche primär Adenokarzinome der Lunge enthält, zugeordnet wurde. Die Abbildung ist einer bereits publizierten Abbildung von Hoberger et al. (2019) nachempfunden (33).

### 4.3 Gruppe mit nicht eindeutigen histologischen Eigenschaften

Bei den Tumoren dieser Gruppe konnte weder anhand der digitalisierten Bilder noch anhand der begleitenden Pathologiebefunde (sofern vorhanden) eine genaue Diagnose gestellt werden. Bei dem Großteil dieser Tumoren handelt es sich um Lungentumoren bei denen ohne immunologische Zusatzuntersuchungen keine sichere Unterscheidung zwischen Plattenepithelkarzinom und Adenokarzinom getroffen werden konnte. Fünf Lungentumoren wurden trotz unklarer histopathologischer Eigenschaften als Adenokarzinome klassifiziert und dann von der molekularen Tumorklassifikation der C2-squamous-like Klasse, welche primär Tumoren mit plattenepithelialen Eigenschaften enthält, zugeordnet. Umgekehrt wurden 18 Lungentumoren mit nicht eindeutiger histopathologischer Diagnose als Plattenepithelkarzinome bezeichnet und dann molekular als Adenokarzinome reklassifiziert. Ein Lungentumor dessen histopathologische Eigenschaften sowohl mit einem Plattenepithelkarzinom als auch mit einem Urothelkarzinom vereinbar sind wird molekular gemeinsam mit dem Großteil der Urothelkarzinome klassifiziert. Ein Ovarialkarzinom wird molekular gemeinsam mit dem Großteil der Nierenzellkarzinome in der Gruppe C5-KIRC zusammengefasst. Die histopathologische Untersuchung ergab bei diesem Tumor allerdings weder Hinweise auf eine bekannte Art von Ovarialkarzinom, noch konnte das Vorhandensein maligner Zellen bestätigt werden, was so auch im begleitenden Pathologiebericht dieses Tumors vermerkt wurde. Bei einem Hirntumor mit nicht eindeutiger Histologie werden laut dem begleitendem Pathologiebericht Hinweise für ein Glioblastom sowie für einen primitiven neuroektodermalen Tumor gefunden. Ferner konnte laut diesem Pathologiebericht auch ein malignes Melanom nicht sicher ausgeschlossen werden. Die Beschreibung eines derartig komplexen Tumors durch den top-level Histologiecode GBM (glioblastoma multiforme) (32) ist aber ungeachtet der tatsächlichen Diagnose eine extreme Vereinfachung, und somit wird dieser Tumor als histologisch nicht eindeutig diagnostizierbar betrachtet. Die molekulare Klassifikation teilte diesen Tumor der Klasse C1-LUAD zu. Bei den beiden letzten Tumoren dieser Gruppe, einem Endometriumkarzinom und einem Blasentumor, waren die histomorphologischen Eigenschaften der HE-Schnitte nicht identisch mit denen der Schnellschnitte. Da die Schnellschnitte für die molekularen Untersuchungen herangezogen wurden, werden diese Tumoren ebenfalls dieser Gruppe zugeordnet.

## 4.4 Gruppe mit falschem Histologiecode

Zwei Tumoren dieser Gruppe verfügen über keine seltenen histopathologischen Eigenschaften und werden in den begleitenden Pathologiebefunden korrekt beschrieben und diagnostiziert. Als sie für die molekulare Tumorklassifikation von Hoadley et al. (2014) mittels top-level Histologiecodes verschlüsselt wurden erhielten sie irrtümlicherweise einen falschen Histologiecode. Wäre der korrekte Histologiecode gewählt worden, wären diese Tumoren der zu erwartenden molekularen Klasse zugeordnet worden, und wären somit nicht als reklassifiziert zu betrachten. Bei einem dritten Lungentumor, der als Adenokarzinom diagnostiziert wurde, handelt es sich höchst wahrscheinlich um eine Metastase eines bereits zuvor bekannten Endometriumkarzinoms, was so auch im begleitenden Pathologiebericht vermerkt wurde. Die molekulare Klassifikation ordnet diesen Tumor der Klasse C6-UCEC, welche nun ausschließlich Endometriumkarzinome enthält, zu. Ein vierter Lungentumor wurde als Plattenepithelkarzinom diagnostiziert und folgerichtig dem Histologiecode LUSC zugeordnet, allerdings liegt die Diagnose Adenokarzinom deutlich näher. Die molekulare Klassifikation ordnet diesen Tumor dem Großteil der übrigen Lungenadenokarzinome zu.

## 4.5 Gruppe mit echten molekular reklassifizierten Tumoren

Die 34 Tumoren dieser Gruppe weisen keine besonderen histopathologischen Eigenschaften auf und es handelt sich dementsprechend auch um keine seltenen Subtypen. Die allgemeinen Histologiecodes beschreiben die histopathologischen Eigenschaften ausreichend genau. Dennoch ordnet die molekulare Klassifikation diese Tumoren nicht der Mehrheit der organverwandten beziehungsweise histologisch identischen Tumoren zu. Neun Urothelkarzinome, zwei invasive Mammakarzinome, zwei Glioblastome, zwei Plattenepithelkarzinome der Lunge, zwei Endometriumkarzinome, ein nicht näher beschriebenes nasopharyngeales Plattenepithelkarzinom und ein Ovarialkarzinom werden der molekularen Klasse C1-LUAD, welche von Adenokarzinomen der Lunge dominiert wird, zugeordnet. Ein Adenokarzinom und ein Plattenepithelkarzinom der Lunge werden der molekularen Klasse C4-BRCA/Basal, welche hauptsächlich invasive Mammakarzinome enthält, zugeordnet. Drei Mammakarzinome, zwei Glioblastome und ein Urothelkarzinom werden molekular als Mitglied der C5-KIRC Gruppe, welche hauptsächlich Nierenkarzinome enthält, reklassifiziert. Ein klarzelliges Nierenkarzinom und ein Adenokarzinom der Lunge werden molekular den Glioblastomen zugeordnet. Ein Mammakarzinom wird molekular als Urothelkarzinom reklassifiziert. Ein Endometriumkarzinom, zwei Urothelkarzinome und ein

Adenokarzinom der Lunge werden den molekularen Klassen C11 beziehungsweise C12 zugeordnet. Diese beiden molekularen Klassen verfügen nicht über eine ausreichende Zahl von Mitgliedern (drei Tumoren in C11 beziehungsweise sechs Tumoren in C12) um ein dominierendes histopathologisches Muster erkennen zu können (sofern überhaupt eines vorhanden ist). Keiner dieser molekular reklassifizierten Tumoren verfügt über histopathologische Eigenschaften die dem dominierenden Muster in den jeweiligen molekularen Klassen ähnelt. Da die histopathologischen Eigenschaften dieser Tumoren nicht besonders von denen der molekular zusammengefassten organverwandten Tumoren abweichen werden sie als echt molekular reklassifiziert bezeichnet.

Zusammenfassend sind also diese 28% der 121 molekular reklassifizierten Tumoren solche bei denen die molekulare Klassifikation offensichtlich Eigenschaften abgrenzen konnte, welche sich wahrscheinlich nicht auf histopathologische Besonderheiten beziehungsweise seltene histologische Subtypen zurückführen lassen.

## 4.6 Abschließende Bemerkungen

Eine genaue Analyse der 121 molekular reklassifizierten Tumoren hat gezeigt, dass in 72% (beziehungsweise 70%, wenn man die beiden Lungentumoren mit den lediglich verwechselten Histologiecodes vernachlässigt) der Fälle histopathologische Besonderheiten vorliegen, die bereits eine Abgrenzung dieser Tumoren von der Mehrzahl ihrer organverwandten Tumoren erlauben. Insbesondere zeigt sich, dass top-level Histologiecodes die histopathologische Komplexität einzelner Fälle nicht angemessen erfassen können, wenn diese Tumoren vom üblichen histopathologischen Muster abweichen.

## 5 Diskussion

Die Diskussion der eben beschriebenen Resultate soll nun die Rolle der histopathologischen Untersuchung im Kontext einer Entitäts-unabhängigen molekularen Tumorklassifikation behandeln. Es sei darauf hingewiesen, dass es nicht der Sinn dieser Diskussion ist, die molekularen Tumorklassifizierungen zu diskreditieren, oder ihre Nützlichkeit grundsätzlich in Frage zu stellen. Vielmehr sollen klassische histopathologische Merkmale in einem molekularen Kontext analysiert werden, und es soll herausgearbeitet werden, dass trotz großer Fortschritte in der molekularen Pathologie eine fehlende Berücksichtigung von morphologischen Subtypen in histopathologischen Diagnosen zu vermeintlichen Inkonsistenzen zwischen klassischer und molekularer Pathologie führen kann.

Die häufigste morphologische Eigenschaft, die zu molekularen Reklassifizierungen führt, ist eine plattenepitheliale Differenzierung. Die in dieser Arbeit untersuchten Tumoren, welche diese Eigenschaft aufweisen, wurden der molekularen Klasse C2-squamous-like zugeordnet. Tumoren dieser molekularen Klasse werden von Plattenepithelkarzinomen der Lunge und oropharyngealen Tumoren, welche typischerweise Plattenepithelkarzinome sind, dominiert. Eine genaue histopathologische Analyse der molekular reklassifizierten Tumoren dieser Gruppe konnte in allen Fällen plattenepitheliale Eigenschaften zeigen. Zum Teil waren diese Eigenschaften durch das Vorhandensein einer deutlichen Hornbildung ganz eindeutig, teils waren die Hinweise auf eine plattenepitheliale Morphologie diskreter. Zwar wiesen die Autoren der hier untersuchten molekularen Klassifikation bereits vereinzelt auf das Vorhandensein von plattenepithelialen Eigenschaften bei den in Abschnitt 4.1 diskutierten Urothelkarzinomen hin (2), allerdings blieb eine systematische Untersuchung dieser Anmerkungen aus. Zusätzlich zu den beschriebenen Urothelkarzinomen konnten auch plattenepitheliale Eigenschaften in dem Mammakarzinom, das ebenfalls der molekularen Klasse C2-squamous-like zugeordnet wurde, gefunden werden. Somit wird diese vermeintlich heterogene molekulare Klasse, welche Neoplasien aus der Lunge, dem oropharyngealen Bereich, dem Urothel und der Mamma enthält, durch ein einendes histopathologisches Merkmal, nämlich eine plattenepitheliale Morphologie, charakterisiert. Ähnlich der in Abschnitt 2.1.3 beschriebenen Adenokarzinome der Lunge, wo ebenfalls eine histopathologische Eigenschaft, nämlich solides Wachstum, charakteristisch für eine molekulare Klasse, nämlich den proximal-inflammatory Subtyp, war, konnte hier ebenfalls eine detaillierte histopathologische Analyse ein morphologisches Charakteristikum definieren, welches eine molekulare Klasse eint. Somit ist, zumindest in dieser molekularen Klasse, der Zusammenhang zwischen molekularen und morphologischen Eigenschaften so stark, dass selbst die algorithmische Sortierung von umfangreichen molekularen Datensätzen ihn nicht auftrennen kann. Dieser starke Zusammenhang einer plattenepithelialen Morphologie und einem spezifischen molekularen Profil könnte auch von therapeutischer Relevanz sein. Es konnte gezeigt werden, dass in der molekularen Klasse C2-squamous-like typischerweise Signalwege aktiviert sind, die einer zielgerichteten Therapie zugänglich sind (35).

Neben der Tatsache, dass eine organübergreifende molekulare Tumorklasse ein definierendes histopathologisches Merkmal hat, erlauben auch die übrigen molekular reklassifizierten Tumoren Rückschlüsse auf die Relevanz der Histopathologie in molekularen Tumorklassen. Wie am Beispiel der in Abschnitt 2.1.2 diskutierten Kolonkarzinome gezeigt wurde, weist der

histopathologische Subtyp des muzinösen Karzinoms überzufällig häufig Mikrosatelliteninstabilität, also ein molekulares Charakteristikum, auf. Zwei Mammakarzinome, welche abseits der von Mammakarzinomen dominierten molekularen Klassen reklassifiziert wurden, wiesen ebenfalls eine muzinöse Morphologie auf. Ob die molekularen Grundlagen dieser morphologischen Eigenschaften nun speziell den muzinösen Phänotyp bedingen, kann nicht gesagt werden. Klar ist aber, dass die muzinöse Morphologie eine histopathologische Abgrenzung von der Mehrzahl der typischen Mammakarzinome erlaubt. Ebenfalls wurden auch zwei oropharyngeale Tumoren, mit spindelizelliger beziehungsweise mukoepidermoider Differenzierung, nicht der molekularen Klasse C2-squamous-like zugeordnet, welche nahezu alle anderen oropharyngealen Tumoren enthält. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Morphologie dieser beiden Tumoren und ihren jeweiligen molekularen Klassen kann im Rahmen dieser Arbeit nicht bewiesen werden. Ähnlich wie bei den muzinösen Mammakarzinomen finden sich allerdings auch spezielle histopathologische Eigenschaften bei diesen beiden reklassifizierten oropharyngealen Tumoren, was sie somit bereits auf histopathologischer Ebene abgrenzbar macht. Auch zwei Nierenzellkarzinome mit sarkomatoider Differenzierung zeigen, dass molekulare und histomorphologische Abgrenzbarkeit von der Mehrheit der übrigen Karzinome häufig zusammen auftreten. Eine Entscheidung, welche Klassifizierung nun besser oder schlechter ist kann hier nicht getroffen werden, aber die Gründe für diese molekularen Reklassifizierungen scheinen klarer zu werden. Sobald detaillierte histopathologische Beschreibungen von diversen Tumoren eines Organs durch einen einzigen top-level Histologiecode zusammengefasst werden gehen unweigerlich Informationen verloren. Wenn eine molekulare Klassifikation, wie die von Hoadley et al. (2014) nun umfangreiche molekulare Profile mit diesen Histologiecodes vergleicht, werden diese zuvor verlorengegangenen histopathologischen Details aufgrund ihrer molekularen Grundlage lediglich erneut aufgedeckt. Dass sich histopathologische Eigenschaften in molekularen Profilen widerspiegeln können wurde umfangreich an den Beispielen Mammakarzinom, Kolonkarzinom und Lungenkarzinom in Abschnitt 2 dieser Arbeit ausgeführt. Diese Wiederentdeckung histopathologischer Vielfalt in molekularen Profilen führt dann zu vermeintlichen Inkonsistenzen zwischen molekularer Pathologie und Histopathologie.

Das gemeinsame Auftreten von molekularer Reklassifizierung und histopathologischen Besonderheiten wird bei 72% der 121 molekular reklassifizierten Tumoren beobachtet. Verblieben sind die 34 im Abschnitt 4.5 beschriebenen Tumoren, welche als echt molekular reklassifiziert bezeichnet werden. In all diesen Fällen konnten keine histopathologischen

Besonderheiten beobachtet, oder seltene histopathologische Subtypen diagnostiziert werden. Somit waren diese Tumoren im Sinne der klassischen histopathologischen Untersuchung nicht von der Mehrheit ihrer organverwandten Karzinome abgrenzbar. Hier könnte es durchaus sein, dass mittels molekularer Analysen Unterschiede zwischen Tumoren aufgedeckt wurden, die das Auflösungsvermögen der klassischen Histopathologie überschreiten. Eine Untersuchung dieser histologisch identen, aber molekular divergenten Tumoren bezüglich Prognose und Therapieansprechen wäre wünschenswert um herauszufinden, inwieweit diese Inkonsistenzen zwischen molekularer Pathologie und detaillierter Histopathologie klinisch relevant sind.

Zusammenfassend ergaben die Untersuchungen dieser Arbeit folgende Erkenntnisse:

- Die molekulare Klasse C2-squamous-like wird durch ein einendes histopathologisches Merkmal, nämlich plattenepitheliale Morphologie, charakterisiert. Plattenepitheliale Morphologie dominiert diese Klasse nicht nur, wie von den Urhebern dieser Klassifikation bemerkt (2), sondern sie charakterisiert diese Klasse ausnahmslos.
- 72% der molekular reklassifizierten Tumoren, also jener Tumoren, welche abseits der Mehrheit ihrer organverwandten Neoplasien klassifiziert wurden, können bereits auf histopathologischer Ebene von der Mehrheit ihrer organverwandten Neoplasien abgegrenzt werden.
- Die Zusammenfassung von verschiedenen histopathologischen Mustern unter einem Histologiecode führt beim Vergleich mit detaillierten molekularen Profilen zu Inkonsistenzen. Diese ergeben sich daraus, dass die molekularen Profile beim Vergleich mit top-level Histotypen ignorierte histologische Subtypen abbilden können.
- Es existieren auch molekular reklassifizierte Tumoren, die sich nicht bereits auf histopathologischer Ebene von ihren organverwandten Neoplasien abgrenzen lassen. Weitere Untersuchungen dieser histologisch identen, aber molekular divergenten Tumoren scheinen sinnvoll.

Insgesamt zeigt diese Arbeit die enge Verzahnung von Morphologie und Molekularbiologie. Histologie lässt Rückschlüsse auf die Molekularbiologie von Tumoren zu und umgekehrt. Allerdings gibt es auch morphologische Befunde ohne molekulares Korrelat und molekulare Tumorklassen ohne einendes morphologisches Charakteristikum. Somit unterstützen die vorgestellten Ergebnisse die am Anfang dieser Arbeit definierte Aufgabe für die moderne Pathologie, nämlich die Integration histologischer und molekularer Befunde für eine effiziente Präzisionspathologie.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Moch H, Blank PR, Dietel M, Elmberger G, Kerr KM, Palacios J, Penault-Llorca F, Rossi G, Szucs TD. Personalized cancer medicine and the future of pathology. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2012;460(1):3-8.
2. Hoadley KA, Yau C, Wolf DM, Cherniack AD, Tamborero D, Ng S, Leiserson MDM, Niu B, McLellan MD, Uzunangelov V, Zhang J, Kandoth C, Akbani R, Shen H, Omberg L, Chu A, Margolin AA, Van't Veer LJ, Lopez-Bigas N, Laird PW, Raphael BJ, Ding L, Robertson AG, Byers LA, Mills GB, Weinstein JN, Van Waes C, Chen Z, Collisson EA, Benz CC, Perou CM, Stuart JM. Multiplatform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues of origin. *Cell*. 2014;158(4):929-44.
3. Hoadley KA, Yau C, Hinoue T, Wolf DM, Lazar AJ, Drill E, Shen R, Taylor AM, Cherniack AD, Thorsson V, Akbani R, Bowlby R, Wong CK, Wiznerowicz M, Sanchez-Vega F, Robertson AG, Schneider BG, Lawrence MS, Noushmehr H, Malta TM, Stuart JM, Benz CC, Laird PW. Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10,000 Tumors from 33 Types of Cancer. *Cell*. 2018;173(2):291-304.e6.
4. Robert Koch Institut. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016
5. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, Ruby SG, O'Malley F, Simpson JF, Connolly JL, Hayes DF, Edge SB, Lichter A, Schnitt SJ. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2000;124(7):966-78.
6. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clinical medicine & research*. 2009;7(1-2):4-13.
7. von Minckwitz G, Untch M, Nuesch E, Loibl S, Kaufmann M, Kummel S, Fasching PA, Eiermann W, Blohmer JU, Costa SD, Mehta K, Hilfrich J, Jackisch C, Gerber B, du Bois A, Huober J, Hanusch C, Konecny G, Fett W, Stickeler E, Harbeck N, Muller V, Juni P. Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes: pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast cancer research and treatment*. 2011;125(1):145-56.
8. Bilous M, Ades C, Armes J, Bishop J, Brown R, Cooke B, Cummings M, Farshid G, Field A, Morey A, McKenzie P, Raymond W, Robbins P, Tan L. Predicting the HER2 status of breast cancer from basic histopathology data: an analysis of 1500 breast cancers as part of the HER2000 International Study. *Breast (Edinburgh, Scotland)*. 2003;12(2):92-8.



9. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(15 Pt 1):4429-34.
10. Fisher ER, Osborne CK, McGuire WL, Redmond C, Knight WA, 3rd, Fisher B, Bannayan G, Walder A, Gregory EJ, Jacobsen A, Queen DM, Bennett DE, Ford HC. Correlation of primary breast cancer histopathology and estrogen receptor content. *Breast cancer research and treatment*. 1981;1(1):37-41.
11. Putti TC, El-Rehim DM, Rakha EA, Paish CE, Lee AH, Pinder SE, Ellis IO. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2005;18(1):26-35.
12. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
13. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lonning PE, Borresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(19):10869-74.
14. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, He X, Perou CM. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast cancer research : BCR*. 2010;12(5):R68.
15. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2009;360(8):790-800.
16. Lu S, Singh K, Mangray S, Tavares R, Noble L, Resnick MB, Yakirevich E. Claudin expression in high-grade invasive ductal carcinoma of the breast: correlation with the molecular subtype. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2013;26(4):485-95.
17. Weigelt B, Reis-Filho JS. Histological and molecular types of breast cancer: is there a unifying taxonomy? *Nat Rev Clin Oncol*. 2009;6(12):718-30.
18. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759-67.

19. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *The New England journal of medicine*. 2009;361(25):2449-60.
20. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2059-72.
21. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, Kang GH, Widschwendter M, Weener D, Buchanan D, Koh H, Simms L, Barker M, Leggett B, Levine J, Kim M, French AJ, Thibodeau SN, Jass J, Haile R, Laird PW. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature genetics*. 2006;38(7):787-93.
22. Alexander J, Watanabe T, Wu TT, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological identification of colon cancer with microsatellite instability. *The American journal of pathology*. 2001;158(2):527-35.
23. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(15):8681-6.
24. Park SJ, Rashid A, Lee JH, Kim SG, Hamilton SR, Wu TT. Frequent CpG island methylation in serrated adenomas of the colorectum. *The American journal of pathology*. 2003;162(3):815-22.
25. Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology*. 2013;62(3):367-86.
26. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Duhig E, Flieder DB, Geisinger K, Hirsch FR, Ishikawa Y, Kerr KM, Noguchi M, Pelosi G, Powell CA, Tsao MS, Wistuba I. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2015;10(9):1243-60.
27. leitlinienprogramm-onkologie.de [Internet]. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms, Langversion 1.0, 2018, AWMF-Registernummer: 020/007OL; [aufgerufen 06 Okt 2019]. Internetadresse: <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Lungenkarzinom.98.0.html>.
28. Cooper WA, Lam DC, O'Toole SA, Minna JD. Molecular biology of lung cancer. *Journal of thoracic disease*. 2013;5 Suppl 5(Suppl 5):S479-90.

29. ngm-cancer.com [Internet]. Netzwerk Genomische Medizin; [aufgerufen am 08 Aug 2019]. Internetadresse: <https://ngm-cancer.com/>.
30. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50.
31. Su AI, Welsh JB, Sapinoso LM, Kern SG, Dimitrov P, Lapp H, Schultz PG, Powell SM, Moskaluk CA, Frierson HF, Jr., Hampton GM. Molecular classification of human carcinomas by use of gene expression signatures. *Cancer research*. 2001;61(20):7388-93.
32. gdc.cancer.gov [Internet]. National Cancer Institute; [aufgerufen am 05 Jul 2019] Internetadresse: <https://gdc.cancer.gov/resources-tcga-users/tcga-code-tables/tcga-study-abbreviations>.
33. Hoberger M, von Laffert M, Heim D, Klauschen F. Histomorphological and molecular profiling: friends not foes! Morpho-molecular analysis reveals agreement between histological and molecular profiling. *Histopathology*. 2019;75(5):694-703.
34. cbiportal.org [Internet]. Center for Molecular Oncology; [zuletzt aufgerufen am 01 Okt 2018] Internetadresse: <http://www.cbiportal.org/index.do>.
35. Campbell JD, Yau C, Bowlby R, Liu Y, Brennan K, Fan H, Taylor AM, Wang C, Walter V, Akbani R, Byers LA, Creighton CJ, Coarfa C, Shih J, Cherniack AD, Gevaert O, Prunello M, Shen H, Anur P, Chen J, Cheng H, Hayes DN, Bullman S, Pedamallu CS, Ojesina AI, Sadeghi S, Mungall KL, Robertson AG, Benz C, Schultz A, Kanchi RS, Gay CM, Hegde A, Diao L, Wang J, Ma W, Sumazin P, Chiu HS, Chen TW, Gunaratne P, Donehower L, Rader JS, Zuna R, Al-Ahmadie H, Lazar AJ, Flores ER, Tsai KY, Zhou JH, Rustgi AK, Drill E, Shen R, Wong CK, Stuart JM, Laird PW, Hoadley KA, Weinstein JN, Peto M, Pickering CR, Chen Z, Van Waes C. Genomic, Pathway Network, and Immunologic Features Distinguishing Squamous Carcinomas. *Cell reports*. 2018;23(1):194-212.e6.



## 7 Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung

„Ich, Michael Hoberger, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: [Molekulare Tumorklassifikation im Kontext der Histomorphologie / Molecular tumor classification in histomorphological context] selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen**

Michael Hoberger hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: [Michael Hoberger, Maximilian von Laffert, Daniel Heim und Frederick Klauschen], [Histomorphological and molecular profiling: friends not foes! Morpho-molecular analysis reveals agreement between histological and molecular profiling], [Histopathology], [2019]

Beitrag im Einzelnen:

- Die histopathologische Untersuchung aller 121 molekular reklassifizierten Tumoren wurde von mir durchgeführt. Supervision durch Prof. Klauschen und PD von Laffert.
- Der Abschnitt „Introduction“ wurde von mir verfasst, Prof. Klauschen wies mich auf die in diesem Abschnitt zitierten Klassifikationen des Bronchialkarzinoms hin. Prof. Klauschen und Hr. Heim schlugen Formulierungen für den Teil der Introduction vor, welcher sich mit molekularen Tumorklassifikationen befasst.
- Der Abschnitt „Materials and methods“ wurde von mir verfasst, in Zusammenarbeit mit Prof. Klauschen wurden die 5 Kategorien definiert, welche den Rahmen für den Abschnitt „Results“ liefern. PD von Laffert wies auf unklare Formulierungen hin, welche von mir behoben wurden.
- Meine Untersuchung der Urothelkarzinome sowie des Mammakarzinoms aus der „SQAMOUS FEATURES GROUP“ führten zu der von mir erstellten Figure 2. Prof. Klauschen und PD von Laffert validierten die Ergebnisse.
- Meine Untersuchung der Tumoren in der „OUT-OF-CLASS MOLECULAR RECLASSIFICATION GROUP“ führte zu den von mir erstellten Figure 3 und Figure 4. Prof. Klauschen und PD von Laffert validierten die Ergebnisse.
- Alle Tumoren im Abschnitt „AMBIGUOUS HISTOLOGICAL FEATURES GROUP“ wurden von mir untersucht, die endgültige Festlegung welche der hier beschriebenen Lungentumoren keine eindeutige histopathologische Diagnose haben wurde von Prof. Klauschen getroffen.
- Alle noch nicht erwähnten Teile des Abschnitts „Results“ wurden von mir verfasst.
- Auf Anregung von PD von Laffert und Hr. Heim wurden zur besseren Übersicht von mir Figure 1 sowie Table 1 erstellt.
- Die Discussion wurde von mir verfasst, Prof. Klauschen und PD von Laffert wiesen auf unklare Formulierungen hin, welche von mir behoben wurden.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

---

Unterschrift des Doktoranden

## 8 Publikation

### 8.1 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge)

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE,SSCI  
 Selected Categories: **"PATHOLOGY"** Selected Category Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 79 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	Annual Review of Pathology-Mechanisms of Disease	4,402	15.952	0.009920
2	ACTA NEUROPATHOLOGICA	18,783	15.872	0.041490
3	MODERN PATHOLOGY	13,649	6.655	0.022670
4	Seminars in Immunopathology	2,967	6.437	0.009290
5	JOURNAL OF PATHOLOGY	16,156	6.253	0.024060
6	BRAIN PATHOLOGY	4,952	6.187	0.007750
7	NEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY	3,654	6.059	0.006350
8	AMERICAN JOURNAL OF SURGICAL PATHOLOGY	20,873	5.878	0.023060
9	JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS	3,818	4.880	0.009420
10	CELLULAR ONCOLOGY	1,322	4.761	0.002020
11	Disease Models & Mechanisms	4,485	4.398	0.014760
12	LABORATORY INVESTIGATION	10,461	4.254	0.010460
13	AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY	39,201	4.069	0.034310
14	CANCER CYTOPATHOLOGY	2,544	3.866	0.004380
15	ARCHIVES OF PATHOLOGY & LABORATORY MEDICINE	9,834	3.658	0.011600
16	JOURNAL OF NEUROPATHOLOGY AND EXPERIMENTAL NEUROLOGY	9,252	3.490	0.008680
17	EXPERT REVIEW OF MOLECULAR DIAGNOSTICS	2,554	3.326	0.005320
18	HISTOPATHOLOGY	9,839	3.267	0.013370
19	HUMAN PATHOLOGY	13,345	3.125	0.015480
20	PATHOLOGY	2,638	3.068	0.004460
21	DISEASE MARKERS	3,183	2.949	0.007020
22	VIRCHOWS ARCHIV	5,897	2.936	0.007480
23	JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY	11,052	2.894	0.008940
24	CYTOMETRY PART B-CLINICAL CYTOMETRY	1,517	2.757	0.002470
25	SEMINARS IN DIAGNOSTIC PATHOLOGY	1,285	2.655	0.002050
26	EXPERIMENTAL AND MOLECULAR PATHOLOGY	3,734	2.566	0.005590
27	HLA	407	2.558	0.000480
28	ENDOCRINE PATHOLOGY	1,180	2.541	0.001710
29	Brain Tumor Pathology	639	2.535	0.001120

Selected JCR Year: 2017; Selected Categories: "PATHOLOGY"





- 8.2 Hoberger M, von Laffert M, Heim D, Klauschen F.  
Histomorphological and molecular profiling: friends not foes!  
Morpho-molecular analysis reveals agreement between  
histological and molecular profiling. Histopathology.  
2019;75(5):694-703

<https://doi.org/10.1111/his.13930>





















## 9 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 10 Publikationsliste

Hoberger M, von Laffert M, Heim D, Klauschen F. Histomorphological and molecular profiling: friends not foes! Morpho-molecular analysis reveals agreement between histological and molecular profiling. Histopathology. 2019; 75(5):694-703.

**Impact Factor** des Histopathology-Journal: **3.267**



## 11 Danksagung

Für die zeitintensive Betreuung dieser Arbeit sowie die unentbehrlichen Ratschläge möchte ich Prof. Frederick Klauschen ganz herzlich danken.

Für die unerschütterliche Unterstützung und grenzenlose Liebe meiner Eltern kann ich keine Worte finden, sondern nur ewig dankbar sein.